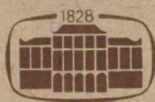


# ÉRTEKEZÉSEK EMLÉKEZÉSEK

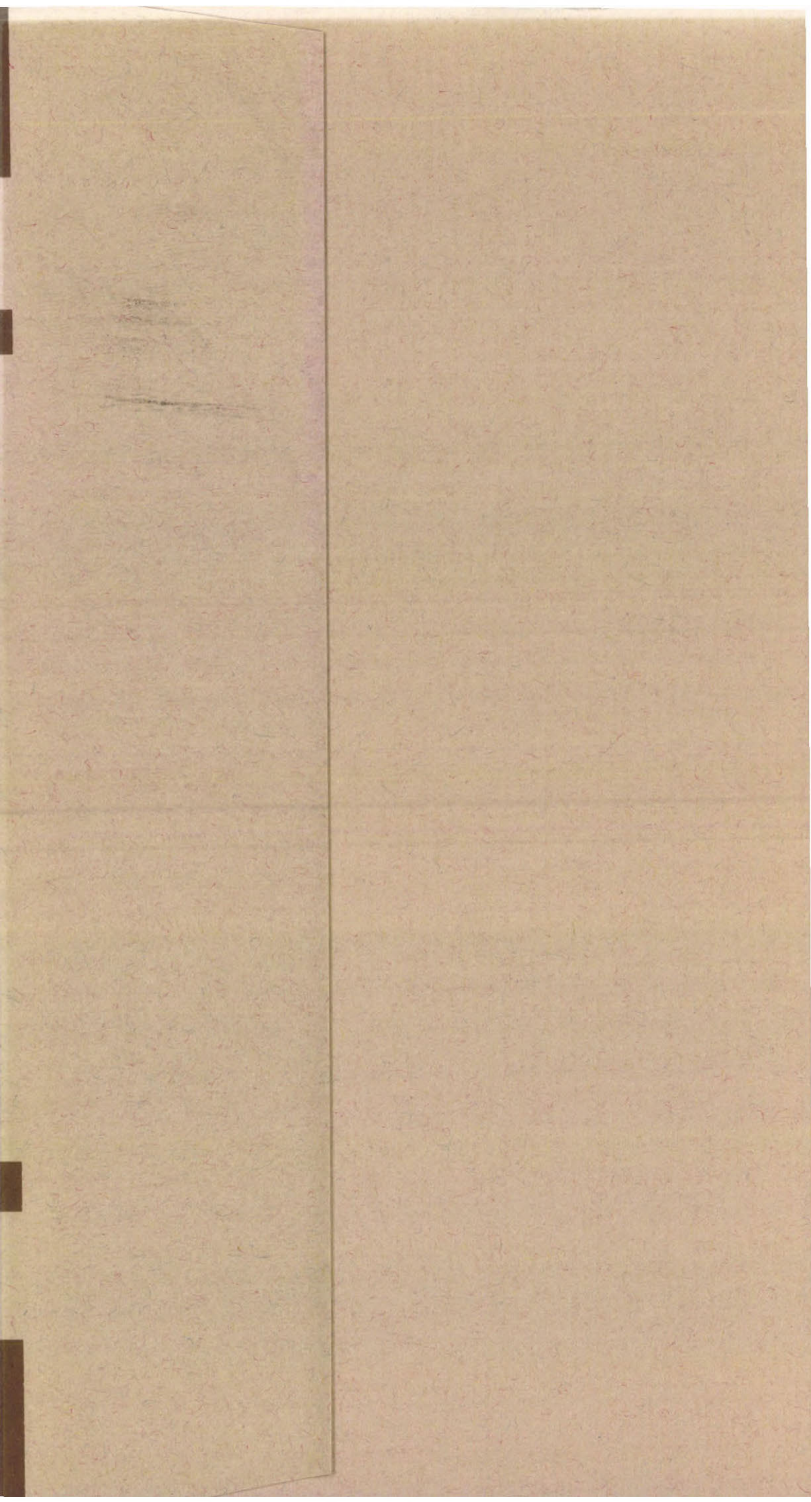
BURGER KÁLMÁN

BIOLÓGIAI HATÁSÚ  
MAKROMOLEKULÁK  
ÉS KISMOLEKULÁJÚ  
MODELLJEIK  
FÉMION-KOORDINÁCIÓJA



115

AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST



ÉRTEKEZÉSEK  
EMLÉKEZÉSEK

# ÉRTEKEZÉSEK EMLÉKEZÉSEK

SZERKESZTI  
TOLNAI MÁRTON

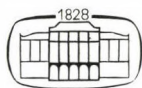


BURGER KÁLMÁN

BIOLÓGIAI HATÁSÚ  
MAKROMOLEKULÁK  
ÉS KISMOLEKULÁJÚ  
MODELLJEIK  
FÉMION-KOORDINÁCIÓJA

AKADÉMIAI SZÉKFOGLALÓ

1993. SZEPTEMBER 21.



AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST

Megjelent a Magyar Tudományos Akadémia  
támogatásával

A kiadványsorozatban a Magyar Tudományos Akadémia  
1982. évi CXLII. Közgyűlése időpontjától megválasztott rendes  
és levelező tagok székfoglalói – önálló kötetben – látnak  
napvilágot.

A sorozat indításáról az Akadémia főtitkárának 22/1/1982. számú  
állásfoglalása rendelkezett.

ISBN 963 05 6951 5

Kiadja az Akadémiai Kiadó  
1117 Budapest, Prielle Kornélia u. 19–35.

© Burger Kálmán, 1995

Minden jog fenntartva, beleértve a sokszorosítás,  
a nyilvános előadás, a rádió- és televízióadás,  
valamint a fordítás jogát, az egyes fejezeteket illetően is.

Printed in Hungary

Akadémiai rendes tagi  
székfoglaló előadásomat  
egykori mesterem,

**Schulek Elemér**

akadémikus emlékének ajánlom,  
születésének 100. évfordulója alkalmából



# TARTALOM

Bevezetés . . . . .	9
A fémion-koordináció szerepe az életfolyamatokban és a gyógyászatban . . . . .	12
Kismolekulájú modellvegyületek fémion-koordinációja . . . . .	15
A szerkezetvizsgálatok szerepe a biokoordinációs kémiában . . . . .	34
Makromolekulájú rendszerek koordinációs kémiája . . . . .	43
Következtetések . . . . .	56
Köszönetnyilvánítás . . . . .	57
Irodalom . . . . .	59





## BEVEZETÉS

Az élettani hatású molekulák — mint a fehérjék, szénhidrátok, nukleinsavak, alkaloidok stb. — mind hordoznak elektronpárdonor atomokat, pl. amino-, hisztidin-, kvanidin- vagy peptidnitrogént, karboxilát-, karbonil- vagy hidroxiloxigént, tioéter-, szulfhidril- vagy diszulfidként stb. Így e vegyületek potenciális ligandumok, amelyek protonálódási-deprotonálódási egyensúlyokban és fémion-koordinációs folyamatokban egyaránt részt vesznek. Mivel a biológiai folyadékokban (sejtnedv, vér stb.) a biológiai hatású szerves vegyületek mellett mindig vannak fémionok is és ezen oldatok pH-ja jól definiált, e koordinációs kémiai folyamatok fellépése elkerülhetetlen [1, 2].

A protonálódás és a fémion-koordináció a biomolekulák töltésének megváltoztatásával hat azok solvatációjára és ezzel befolyásolja transzportsebességüket oldatban és így az élő szervezetben is.

A donorcsoportokon a protonálódás és fémionmegkötés egyaránt csökkenti az elektronsűrűséget. Ez a molekulán továbbterjedhet jelentős elektronszerkezeti változást okozva, ami a rendszer kémiai tulajdonságainak, reak-

cióinak, stabilitásának megváltozásához vezethet.

A biológiai rendszerek hidrogénhidas szerkezete és a fémionok szerkezetalakító templát hatása miatt a protonálódás és/vagy fémion-koordináció változása a molekula konfigurációjának vagy konformációjának megváltozását okozhatja. A fehérjék szekunder és terciér szerkezetét például intramolekuláris hidrogénhidak hozzák létre, így ezek akár kis részben történő felhasadása szerkezetváltozást okozhat. Fémion-koordinációra vezethető vissza számos bonyolult szerkezeti egység létrejötte, pl. egyes metallopeptidekben, enzimekben az aktív kötőhelyet képező „zseb”. Rendszerint fémion-koordináció hozza létre a biokatalizátorok entatikus állapotát [3] is.

A molekulák élettani hatása számos kémiai és fizikai tényező függvénye. Ilyenek a hatóanyag transzportsebessége, az aktív forma kialakulásának, illetve bomlásának (metabolizmusának) sebessége, a receptor iránti affinitás stb. Ez utóbbi a molekula elektronszerkezetétől, konfigurációjától, konformációjától is függ. A fémion-koordináció mindezen folyamatokat befolyásolja, és így komplex módon hat a biológiai aktivitásra.

Az élettani folyamatok megértéséhez tehát a rendszerek koordinációs kémiájának ismeretére van szükség. Ez utóbbi felismerés egy új tudományterület — a *biokoordinációs kémia* — kialakulásához vezetett. Ez a szervesetlen ké-

mia és a koordinációs kémia elméleti és kísérleti fegyvertárát felhasználva vizsgálja az élettani hatású molekulák reakcióit fémionokkal, illetve a biológiai hatású fémkomplexeket.

## A FÉMION-KOORDINÁCIÓ SZEREPE AZ ÉLETFOLYAMATOKBAN ÉS A GYÓGYÁSZATBAN

Számos élettani folyamatban nélkülözhetetlen bizonyos fémionok jelenléte. Több enzim működését fémionok iniciálják és szabályozzák [4, 5]. A biológiai rendszerekben lejátszódó folyamatok katalízisében is meghatározó szerepet játszanak a fémionok. A fémhiánybetegségek nagy száma bizonyítja a fémnyomok életfontosságát. E betegségek gyógyítása céljából a hiányzó fémet a biológiai membránokon keresztül kell bejuttatni a szervezetbe. Mivel a fémionok hidrofil jellegűek, a biomembránok viszont hidrofóbok, a fémionok áthaladása a membránokon csak hidrofób komplexeik formájában mehet végbe. Hasonló a helyzet akkor is, ha az élő szervezetben felgyűlt, betegséget okozó fémet kell eltávolítani. Ennek kiürülése is csak fémkomplexe formájában várható. Ezzel magyarázható, hogy a vérszegénységet gyógyító vashiányt pótló gyógyszerek a vasat komplex vegyületei formájában tartalmazzák és a Wilson-kór gyógyítása céljából a szervezetben felgyűlt rézet penicillamin-komplexe formájában távolítják el. Komplexképzőket használunk a fémek a szervezetbe történő bevitele és eltávolítása során egyaránt [6—8]. Atomkatasztrófa esetén a radioaktív stroncium eltávolítására használható gyógyszer



stronciumszelektív ligandum, amely lehetővé teszi e fém kiürülését a szervezetből, anélkül, hogy az életfontosságú kalciumionokat is eltávolítaná.

A fémion-koordináció hatását a gyógyszerészeti és gyógyászati gyakorlat is sok helyen hasznosítja. Kitűnt például, hogy bizonyos polipeptidek és fehérjék enzimatis bontását fémion-koordinációjuk akadályozza. Ennek eredménye a cinkkomplex formájában adagolt inzulin- és kortikotropinkészítmények elnyújtott (retard) gyógyszerhatása. Egyes rákellenes gyógyszerként használt biszindolalkaloidok (vinkrisztin, vinblasztin) hidrolitikus bomlásra érzékenyek. Ezért gyógyszerként porampulákban kerültek forgalomba, amelyekből az adagolás előtt, közvetlenül a betegágynál készült az injekciós oldat. Koordinációs kémiai vizsgálatokból kitűnt, hogy e molekulák cink- és kalciumkomplexei vizes oldatban több évig bomlás nélkül eltarthatók [9], ami lehetővé tette stabil injekciós oldatban történő kiszerelésüket.

A fémion-koordináció a molekulák toxikuságára is hat. Néhány rákellenes antraciklin-származék vas(III)-komplexe például kevésbé toxikus, mint az eredeti molekula, de farmakológiai aktivitása változatlan [10, 11]. Hasonló jelenséget észleltek néhány maláriaellenes gyógyszer fémkomplexeinél is [12, 13].

A fémionmegkötés a farmakológiai aktivitást is befolyásolja. Egyes szalicilsavszármazé-

kok rézkomplexeinek lázcsökkentő hatása erősebb, mint az anyamolekuláé [14]. Teofilin és szalicilsav magnéziummal képezett vegyeskomplexének gyulladásgátló hatása nagyobb, mint az egyes komponenseké külön-külön [15].

A gyógyszerként használt szerves molekulák az élő szervezetben belül is reagálhatnak az ott jelenlévő fémionokkal. E folyamatokat és hatásukat kevésbé ismerjük.

Ebből a néhány példából is kitűnik, hogy mind az élettani folyamatokban részt vevő, mind a gyógyászatban használatos szerves molekulák fémion-koordinációjának ismeretére szükség van. Alapvető fontosságú az e rendszerekben keletkező fémkomplexek összetételének, szerkezetének és koncentrációjának megismerése.

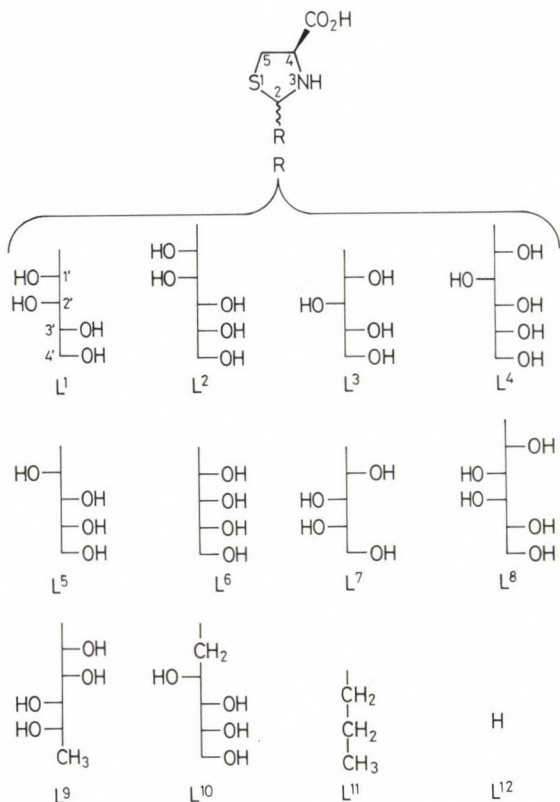
Ezeknek a feladatoknak a megoldását nehezíti, hogy a biomolekulák jó része több donoratomot tartalmaz, amelyek között hasonló bázikusságúak, illetve fémion-affinitásúak lehetnek. Ennek a következményeképpen a rendszerben egymással átfedő, többlépcsős protonálódási, illetve komplexképződési folyamatokkal kell számolnunk, ami az egyensúlyi adatok egyértelmű értékelését nehezéssé, bonyolultabb esetekben lehetetlenné is teheti [16].

## KISMOLEKULÁJÚ MODELLVEGYÜLETEK FÉMION-KOORDINÁCIÓJA

A biológiai hatású makromolekulák koordinációs kémiai jellemzése ezért rendszerint azok kismolekulájú építőköveinek, vagy/és fontosabb egységeit modellező kismolekulának az egyensúlyi és szerkezetvizsgálatán alapul. Ennek eredménye, hogy az aminosavak koordinációs kémiája minden részletében ismert [17], de a sokkal gyengébb komplexképző egyszerű cukrok és származékaik fémion-koordinációjáról is viszonylag sokat tudunk [18].

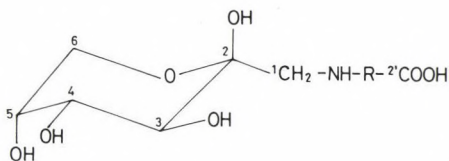
Nagyobb érdeklődésre tarthat számot ma a két-három molekulából felépített modellvegyületek vizsgálata. A glukoproteinek fehérje és szénhidrát részét összekötő egységet modellező cukor-aminosav-származékok fémion-megkötésének vizsgálatától volt várható pl. annak megállapítása, hogy a két komponens együttes jelenléte hogyan befolyásolja egymás fémion-koordinációját. E célból adott aminosav különböző cukrokkal, illetve adott cukor-molekula különböző aminosavakkal képzett adduktumainak (1. és 2. ábra) koordinációs kémiája képezte beható vizsgálatok tárgyát [19—23].

E vegyületek háromféle képződési folyamatát a 3. ábra mutatja be. Látható, hogy a glü-



**1. ábra.** A tiazolidinkarbonsav szénhidrát-származékainak konformációi

köz és az alifás aminosavak reakciójának termékei glükonil-aminosavak [22], a cisztein és a cukrok kölcsönhatásának eredményeképpen tiazolidinkarbonsav-származékok [19] képződnek, míg a glukonsav és aminosavak reakciója Amadori átalakulási termékekhez vezet,



Ligandum	R=
FRU-GLY	$-1'\text{CH}_2-$
FRU- $\beta$ -ALA	$-1'\text{CH}_2-3'\text{CH}_2-$
FRU-VAL	$-1'\text{CH}-$ $3'\text{CH}(4'5'\text{CH}_3)_2$
FRU-LEU	$-1'\text{CH}-$ $3'\text{CH}_2-4'\text{CH}(5'6'\text{CH}_3)_2$
FRU-ILE	$-1'\text{CH}-$ $3'\text{CH}-4'\text{CH}_2-5'\text{CH}_3$ $6'\text{CH}_3$
FRU PHE	$-1'\text{CH}-$ $3'\text{CH}_2-4'-9'\text{PHE}$

2. ábra. A vizsgált fruktóz-aminosav származékok

amelyeket fruktóz-aminosavaknak neveznek [23].

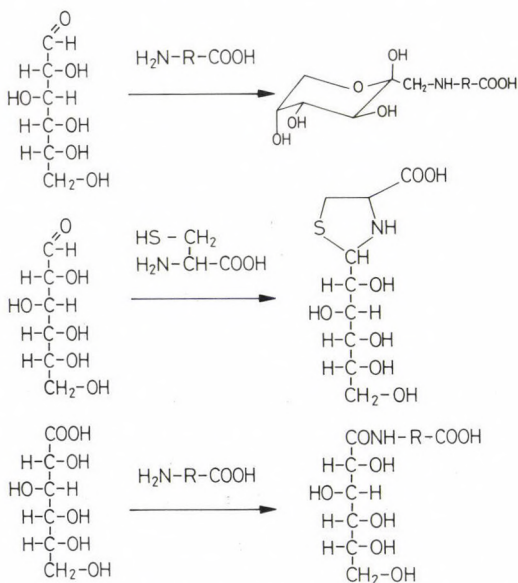
Mindhárom vegyületcsoport protonálódási és komplexképződési egyensúlyi vizsgálata egyértelműen arra utalt, hogy e kölcsönhatásokban mind az aminosav, mind a cukorrész donorcsoportjai részt vesznek.

A tiazolidinszármazékok protonálódási egyensúlyainak tanulmányozása során kitűnt, hogy — amint az az 1. ábra és 1. táblázat adatainak összevetéséből látható — a vegyületcsoport protonálódását jelentősen befolyásolja a szénhidrátész harmadik szénatomján elhelyezkedő hidroxilcsoport sztereokémiai elhelyezkedése. E csoport protonja megfelelő



**1. táblázat.** Tiazolidinkarbonsav-származékok protonálódási állandói [19]

Ligandum	$\lg \beta_{011}$	$\lg \beta_{012}$
$L^1$	$5,10 \pm 0,02$	$6,56 \pm 0,05$
$L^2$	$5,14 \pm 0,02$	$6,64 \pm 0,06$
$L^3$	$5,32 \pm 0,02$	$6,78 \pm 0,05$
$L^4$	$5,31 \pm 0,02$	$6,77 \pm 0,06$
$L^5$	$5,37 \pm 0,02$	$6,84 \pm 0,05$
$L^6$	$5,43 \pm 0,03$	$6,94 \pm 0,05$
$L^7$	$5,50 \pm 0,02$	$6,93 \pm 0,06$
$L^8$	$5,53 \pm 0,02$	$6,96 \pm 0,05$
$L^9$	$5,51 \pm 0,02$	$6,99 \pm 0,06$
$L^{10}$	$5,53 \pm 0,02$	$7,08 \pm 0,06$
$L^{11}$	$6,25 \pm 0,02$	$7,84 \pm 0,05$



**3. ábra.** Aminosav-cukor származékok képződési reakciói

térállása esetén a tiazolidinyűrű nitrogénjével hidrogénhidat képez, így módon csökkentve a nitrogén protonálódási állandóját. Ezért a protonálódási állandó nagysága a vegyület cukorrészének konformációjától függ (1. táblázat). E specifikus kölcsönhatás mellett a vegyületcsoport minden tagjában jelentkezik a cukorrész negatív induktív hatása, amely az aminosav nitrogénjének protonálódási állandóját közvetlenül, a karboxilcsoportét ezen keresztül csökkenti.

Sokkal kifejezettebb a cukorrész hatása az aminosavrész fémionmegkötésére. Bár az aminosavak sokkalta erősebb komplexképzők (elektronpádonorok), mint a cukrok, a cukortartalmú adduktumok komplex stabilitási állandói mindazokban a rendszerekben, ahol a cukor egyes számú szénatomján elhelyezkedő hidroxilcsoport megfelelő térállású, nagyobbak bizonyultak, mint a megfelelő aminosav komplexeké. Jól látható ez a tiazolidinkarbonsavak esetében az 1. ábra és 2. táblázat adatait összevetve (2. táblázat), de egyértelműen tükrözik ezt a folyamatot a fruktóz-aminosav adduktumok (Amadori termékek) fémkomplexei stabilitási állandóinak a megfelelő aminosav komplexekénél nagyobb értékei (3. táblázat) is. Utóbbi adatokban a ligandumok különböző protonálódási állandói által okozott különbséget figyelembe vettük.

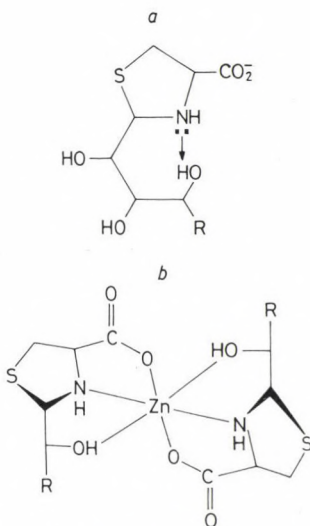
Ezek az egyensúlyi adatok arra utalnak, hogy a megfelelő térállású alkoholos hidroxil-

**2. táblázat.** Tiazolidinkarbonsav-származékok cink(II)komplex képződésének lépcsőzetes egyensúlyi állandói [19]

Ligandum	$\lg K_1$	$\lg K_2$	$\lg K_{-1}$	$\lg K_{-2}$
$L^7$	4,19	2,94	6,44	4,64
$L^3$	4,05	2,81	6,45	4,88
$L^8$	4,01	2,92	5,88	5,49
$L^4$	3,75	2,76	6,29	5,86
$L^6$	3,45	2,65	6,42	5,31
$L^9$	3,23	2,34	6,28	5,72
$L^5$	2,90	2,12	7,28	5,93
$L^1$	2,90	2,00	7,41	5,75
$L^2$	2,69	2,29	6,83	5,70

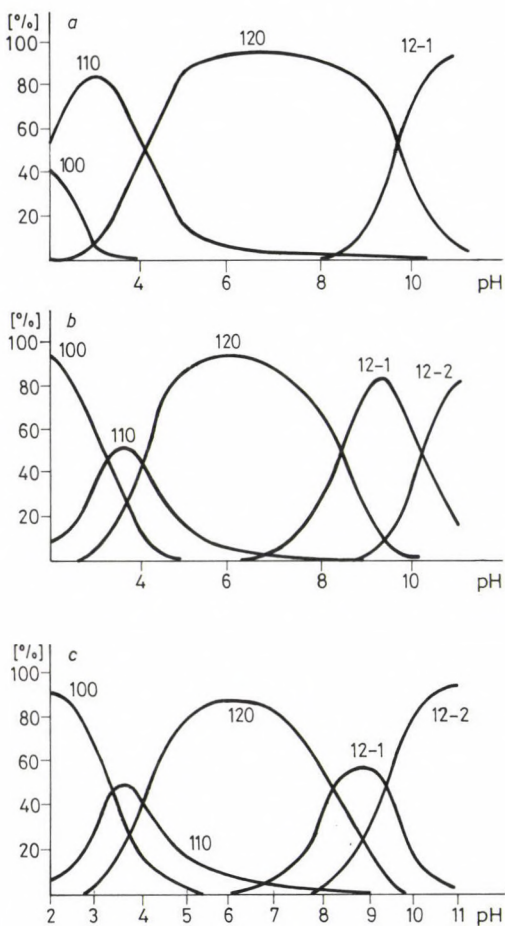
**3. táblázat.** Fruktóz-aminosav adduktumok és a megfelelő aminosavak réz(II)- és nikkel(II)komplexeinek a ligandumok protonálódási állandóival korrigált stabilitási állandói [23]

Ligandum	$\lg K_{CuL} - \lg K_{HL}$	$\lg K_{NiL} - \lg K_{HL}$
FRU- $\beta$ -ALA	-2,43	-4,61
$\beta$ -ALA	-3,06	-5,52
FRU-GLY	-0,72	-3,13
GLY	-1,42	-3,79
FRU-VAL	-0,88	-3,80
VAL	-1,31	-4,00
FRU-LEU	-0,49	-3,39
LEU	-1,46	-4,12
FRU-ILE	-0,67	-3,85
ILE	-1,22	-4,22
FRU-PHE	-0,27	-3,20
PHE	-1,25	-3,96



**4. ábra.** Tiazolidinkarbonsav-származékok hidrogénhidas gyűrűs szerkezete (a) és cink(II)-komplexeinek koordinációs szférája (b)

csoport oxigénje deprotonálatlan formában is képes a fémionhoz kötődni, és ezzel egy újabb kelátgyűrűt képezve (4. ábra) a komplex stabilitását megnövelni. Jól tükrözik ezt a jelenséget az 5. ábra megoszlási görbéi, amelyekből látható, hogy a biszkomplex (120) stabilitása a komplexképződés számára megfelelő térállású cukor-OH-ú L-arabinózt tartalmazó komplexben a legnagyobb, az ezzel ellentétes elhelyezkedésű OH-t tartalmazó D-arabinóz komplexben a legkisebb, míg a ramnóz komplexben a második C-atomon lévő OH-csoport megfelelő térállású, koordinációját azonban a harma-



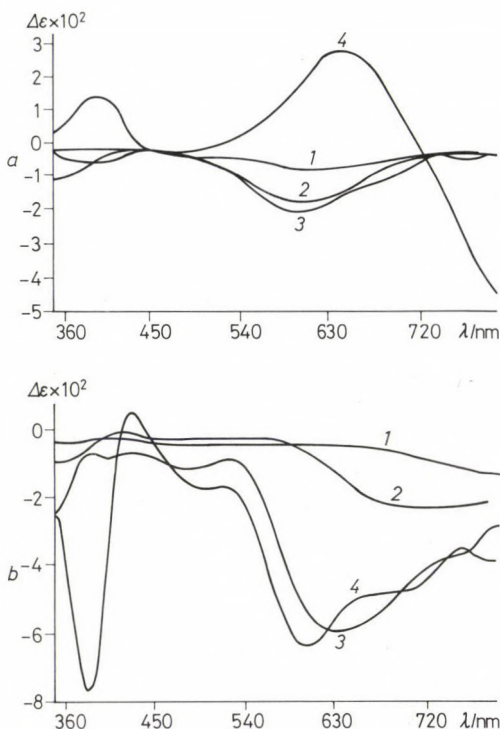
**5. ábra.** A nikkel(II) *L*-arabinóz (*a*), ramnóz (*b*) és *D*-arabinóz-tartalmú (*c*) tiazolidinszármazékokkal képezett komplexeinek megoszlása a pH függvényében



dik C-atomon lévő OH-csoport akadályozza. Ennek a feltételezésnek a jogossága CD-mérésekkel igazolható volt [23]. Az egyébként optikai aktivitással nem rendelkező aminosavat, pl. glicint tartalmazó fruktóz-aminosavak fémkomplexei a cukorrész koordinációjának hatására már olyan kémhatás mellett is optikai aktivitást mutatnak (6. ábra), amelyeknél a hidroxilcsoport deprotonálódása még nem következhet be.

E vegyülettípus komplexképződésének pH-metriás egyensúlyi vizsgálata azt mutatta, hogy lépcsőzetes 1:1 és 1:2 fém:ligandum összetételű törzskomplex képződése mellett további deprotonálódással járó folyamatok is lejátszódnak a rendszerben (lásd 4. és 5. táblázatokat). Ez utóbbiak vagy a koordinálódó cukorrész hidroxilcsoportjá(i)nak deprotonálódására, vagy hidroxó vegyes komplex(ek) képződésére vezethetők vissza. Az egyensúlyi vizsgálatok magukban e két folyamat megkülönböztetését nem teszik lehetővé. Ezért a rendszerek további szerkezetvizsgálatára volt szükség.

A komplexek CD-spektrumának pH-függését vizsgálva (6., 7. ábra) kitűnik, hogy mindazokban a rendszerekben, amelyekben az aminosavrész nitrogénjétől a kelátképzés számára megfelelő távolságban elhelyezkedő alkoholos hidroxilcsoport térállása a fémionhoz való koordináció számára kedvező, a pH emelésével e koordinációt bizonyító konformációs



**6. ábra.** Nikkel(II) fruktóz-aminosav rendszerek CD-spektrumai különböző kémhatású oldatokban:

a) FRU-GLY: 1-pH = 4,2; 2-pH = 5,6; 3-pH = 6,9; 4-pH = 9,7;  
 b) FRU-VAL: 1-pH = 3,9; 2-pH = 5,3; 3-pH = 7,1; 4-pH = 9,5

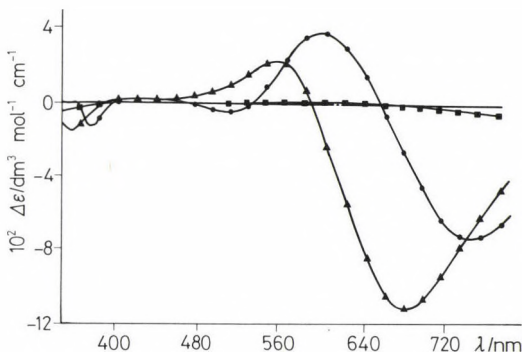
disszimmetria lép fel. Az ezt tükröző CD-sáv negatív előjele a koordinálódó hidroxiloxigént hordozó szénatom abszolút konfigurációjára is utal. Eszerint a jelenségért felelős szén *S*-konfigurációjú, ami azt bizonyítja, hogy a fruktóz-aminosav-származékokban (szemben

**4. táblázat.** Fruktóz-aminosav adduktumok és a megfelelő aminosavak nikkel(II)komplexeinek stabilitási állandói [23]

Ligandumok	$\lg \beta_{ML}$	$\lg \beta_{ML_2}$	$\lg \beta_{ML_2H-1}$	$\lg \beta_{ML_2H-2}$
FRU- $\beta$ -ALA $\beta$ -ALA	$4,13 \pm 0,03$ 4,58	$7,92 \pm 0,06$ 7,95	$-0,33 \pm 0,10$	$-10,02 \pm 0,06$
FRU-GLY GLY	$4,97 \pm 0,05$ 5,78	$8,97 \pm 0,07$ 10,58	$1,37 \pm 0,09$	$-8,25 \pm 0,12$
FRU-VAL VAL	$3,91 \pm 0,03$ 5,42	$6,91 \pm 0,03$ 9,72	$-0,58 \pm 0,08$	$-10,59 \pm 0,12$
FRU-LEU LEU	$4,44 \pm 0,03$ 5,45	$7,71 \pm 0,04$ 9,71	$0,44 \pm 0,07$	$-9,36 \pm 0,12$
FRU-ILE ILE	$4,04 \pm 0,02$ 5,40	$7,28 \pm 0,06$ 9,70	$-0,25 \pm 0,11$	$-10,30 \pm 0,13$
FRU-PHE PHE	$4,08 \pm 0,02$ 5,15	$7,38 \pm 0,05$ 9,59	$-0,21 \pm 0,09$	$-10,41 \pm 0,12$

**5. táblázat.** Fruktóz-aminosav adduktumok és a megfelelő aminosavak réz(II)komplexeinek stabilitási állandói [23]

Ligandumok	$\lg \beta_{ML}$	$\lg \beta_{ML_2}$	$\lg \beta_{MLH}$	$\lg \beta_{MLH-1}$
FRU- $\beta$ -ALA $\beta$ -ALA	$6,31 \pm 0,05$ 7,04	— 12,54	$10,50 \pm 0,04$	$2,06 \pm 0,04$
FRU-GLY GLY	$7,38 \pm 0,02$ 8,15	$13,26 \pm 0,05$ 15,03	$9,89 \pm 0,15$	$1,90 \pm 0,05$
FRU-VAL VAL	$6,83 \pm 0,06$ 8,11	$11,54 \pm 0,09$ 14,90	$9,65 \pm 0,10$	$1,76 \pm 0,06$
FRU-LEU LEU	$7,34 \pm 0,03$ 8,2	$12,48 \pm 0,06$ 15,0	$10,14 \pm 0,12$	$2,11 \pm 0,04$
FRU-ILE ILE	$7,22 \pm 0,06$ 8,40	$12,35 \pm 0,09$ 15,40	$10,12 \pm 0,11$	$2,23 \pm 0,03$
FRU-PHE PHE	$7,01 \pm 0,05$ 7,86	$11,27 \pm 0,11$ 14,77	$9,46 \pm 0,15$	$2,22 \pm 0,05$



7. ábra. A réz (II) D-glukonil-glicin komplexének CD-spektruma pH=4,9 (■), pH=8,4 (▲) és pH=10,5 (●) kémhatású vizes oldataiban ( $C_{Cu}$ :  $1,0 \cdot 10^{-2}$  mol dm $^{-3}$ ,  $C_L$ :  $1,0 \cdot 10^{-1}$  mol dm $^{-3}$ )

a tiazolidinszármazékokkal) a cukor hármas szénatomjához kapcsolódó deprotonált OH-csoport vesz részt a koordinációs szférában. Ilyenformán az utóbbi rendszerekben a központi fémion az aminosav karboxilát oxigénje és szekunder aminonitrogénje által képzett öttagú kelátgyűrű mellett a hidroxiloxigénnel egy hattagú kelátgyűrűt is képez. Az olyan cukormolekulát tartalmazó adduktumok esetén viszont, amelyeknél az aminosav nitrogénjéhez legközelebbi alkoholos hidroxil koordinálódik a fémhez, a koordinációs szférában analóg módon két újabb öttagú kelátgyűrű szerepel.

Azokban a rendszerekben, amelyekben az aminosav nitrogénjéhez közeli hidroxilcsoport térállása a koordináció számára nem kedvező, a pH emelése hidroxó vegyes komplex kialaku-

lását okozza. Ez utóbbi folyamat a komplexben optikai aktivitást nem hoz létre. A pH emelése koordinált deprotonált alkoholos hidroxilcsoport részvételével képezett kelátgyűrűt tartalmazó fémkomplexben is létrehozhatja a hidroxó vegyes komplexet, hidroxidionnal kiszorítva a deprotonált alkoholos hidroxilcsoportot a koordinációs szférából. Ehhez azonban jelentősen nagyobb pH kell, mint az ilyen kelátgyűrűt nem tartalmazó rendszerben, amint az az 1. ábra és a 2. táblázat adatainak összevetéséből is látható.

A réz(II) központi atomú komplexek esetében a fém közvetlen környezetére ESR-vizsgálatokból is következtethetünk. Ennek keretében elsősorban a réz—réz mágneses kölcsönhatással járó oligomerizációra nyerhetünk adatokat. Ennél fontosabbnak bizonyult azonban a lépcsőzetesen képződő különböző szerkezetű és összetételű monomer komplexek ESR-spektroszkópiával történő jellemzése. A különböző fém : ligandum arányú és kémhatású rendszerekben a spektrumok — különböző összetételű koordinációs szférát feltételezve történő — szimulációja és a számított és mért spektrumok összevetése segítségével megállapítható volt az egyes komplexekben a rézhez kapcsolódó nitrogénatomok száma. Az ESR-spektrum pH-függését a pH-metriás egyensúlyi mérések adataival összevetve, így egyértelműen megkülönböztethetőek voltak az aminosav nitrogénjének bekötéséből és az alkoholos

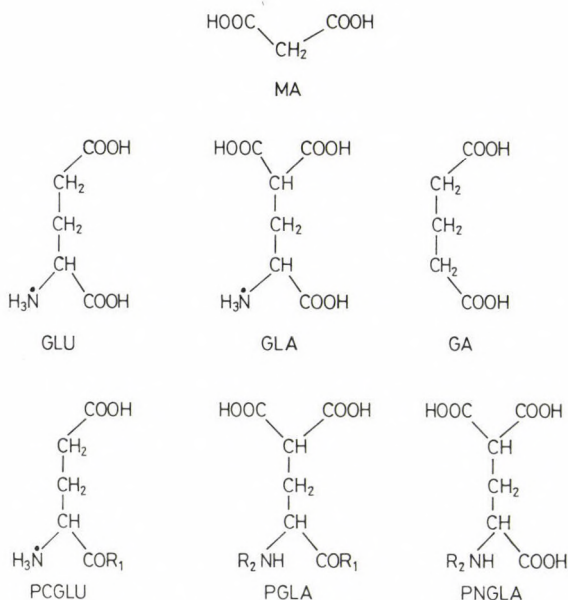


hidroxil koordinációjából származó deprotonálódási folyamatok. Ezek az adatok a CD-vizsgálatokkal összevetve egyértelműen igazolják a vegyület cukorkomponensének szerepét a komplexképződésben. A hidroxó vegyes komplexek megkülönböztetése a hasonló deprotonálódási folyamatban képződő deprotonált alkoholos hidroxilt tartalmazó rendszerektől a réz szuperfinom csatolási állandója alapján is történhet, mivel az a koordinált hidroxidoxigént tartalmazó rendszerekben kisebb, mint az ilyet nem tartalmazóakban.

Végezetül e komplexek EXAFS-vizsgálata mind szilárd állapotban, mind vizes oldatban lehetővé tette a koordinációs számok és a megfelelő kötéstávolságok egzakt meghatározását is [24]. Bár megjegyzendő, hogy ez utóbbi vizsgálat nem tesz egyértelműen különbséget a koordinált alkoholos oxigén és a hidroxó vegyes komplex oxigénje között.

Már ezekből is kitűnik, hogy a biomolekulák kis molekulasúlyú modelljeinek koordinációs kémiája — a biorendszertől függetlenül — magában is nagy jelentőségű. Ezek a vizsgálatok vezettek számos ambidentát ligandum komplexképződési folyamatainak megértéséhez.

A K-vitamin-függő véralvadási faktorok működését a kalciumion-koordináció szabályozza. Kimutatták, hogy e fehérje *N*-terminális végén elhelyezkedő gamma-karboxi-glutaminsav (GLA) egységek felelősek a fémion



**8. ábra.** A vizsgált gamma-karboxi-glutaminsav-származékok szerkezeti képlete és rövidítésük ( $R_1 = \text{CH}_3\text{-NH-}$ ,  $R_2 = \text{CH}_3\text{-CO-}$ )

megkötéséért. Többen is foglalkoztak ezért a GLA-tartalmú kispeptidek és egyéb GLA-származékok protonálódásának és fémion-koordinációjának vizsgálatával. A 8. ábrán ilyen vegyületcsoportot mutatunk be, amelynek protonálódási mikroállandóiból egzakt módon meghatározható volt az egyes funkciós csoportok protonáltsági állapotának a többi funkciós csoport bázikusságára gyakorolt hatása (6. táblázat).

A peptidláncban elhelyezkedő GLA-t modellező PGLA-kalciumion megkötésének vizs-



6. táblázat. A  $\gamma$ -karboxi-glutaminsav-származékok protonálódási mikroállandói [25]

Származék	$\lg k^{\gamma}$	$\lg k^{\alpha}$	$\lg k^{\gamma}_{\gamma}$	$\lg k^{\alpha}_{\gamma}$	$\lg k^{\gamma}_{\alpha}$	$\lg k^{\alpha}_{\gamma\gamma}$	$\lg k^{\gamma}_{\alpha\gamma}$
MA	4,67	—	3,01	—	—	—	—
GA	4,52	—	4,41	—	—	—	—
GLU	4,06	2,51	—	2,40	3,95	—	—
PCGLU	3,94	—	—	—	3,94	—	—
GLA	4,02	2,66	2,34	2,55	3,91	2,44	2,23
PNGLA	4,52	3,39	2,84	3,28	4,41	3,17	2,73
PGLA	4,38	—	2,68	—	4,38	—	2,68

7. táblázat. A  $\gamma$ -karboxi-glutaminsav-származékok kalcium- és magnéziumkomplexeinek stabilitási állandói [25]

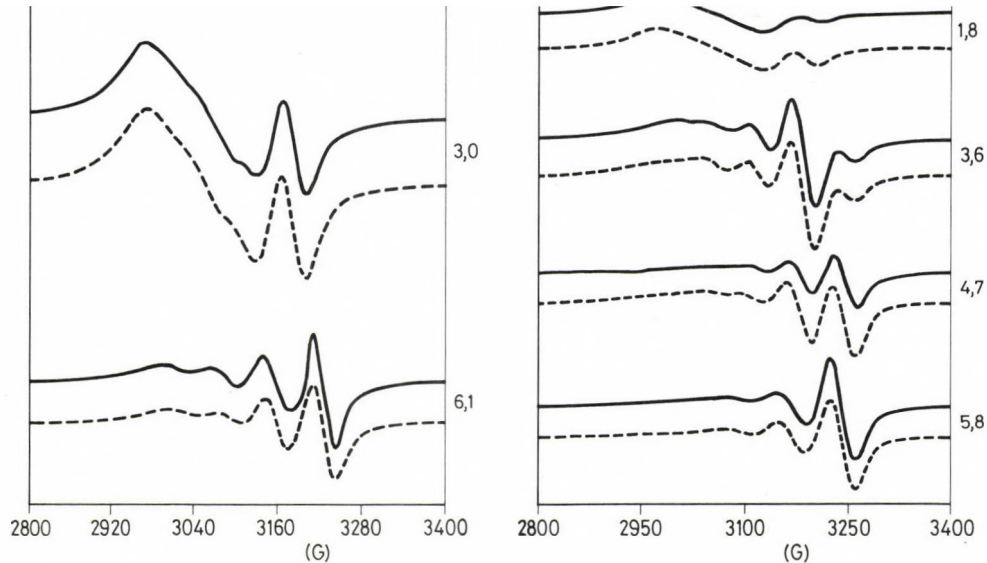
Származék	Ligandum protonáltság	Ca <sup>2+</sup> komplex lgK <sub>1</sub>		Mg <sup>2+</sup> komplex lg K <sub>1</sub>	
		$\gamma$ -helyzet	$\alpha$ -helyzet	$\gamma$ -helyzet	$\alpha$ -helyzet
MA	A <sup>2-</sup>	1,15	—	1,73	—
PGLA	A <sup>2-</sup>	0,84	—	1,03	—
GLU	A <sup>2-</sup>	—	0,60	—	1,33
PNGLA	H <sub><math>\alpha</math></sub> A <sup>2-</sup>	0,84	—	1,03	—
	A <sup>3-</sup>	1,06	—	1,15	—
GLA	H <sub><math>\alpha</math></sub> A <sup>-</sup>	0,40	—	0,70	—
	A <sup>2-</sup>	0,60	—	0,92	—
	A <sup>3-</sup>	—	0,64	1,42	—
Véralvadási faktor	—	3,5	—	—	—

H <sub>$\alpha$</sub> A<sup>-</sup>, ill H <sub>$\alpha$</sub> A<sup>2-</sup> jelenti az  $\alpha$ -karboxil-csoportján protonált GLA, ill. PNGLA részecskéket

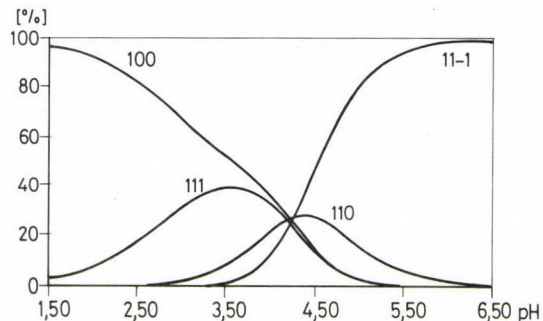
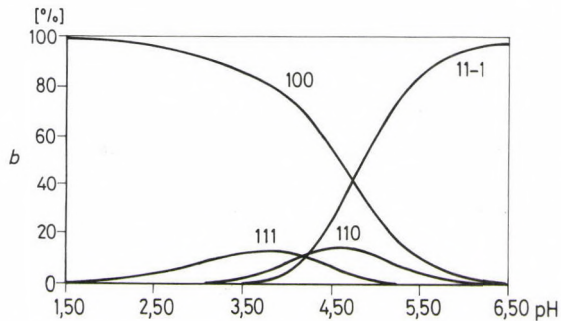
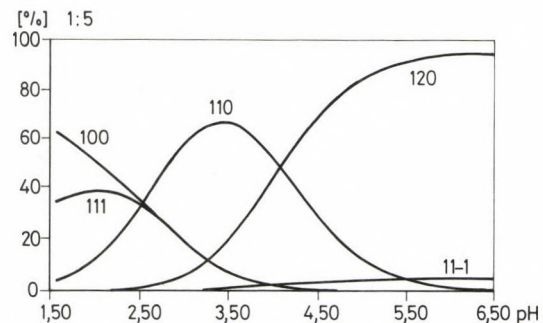
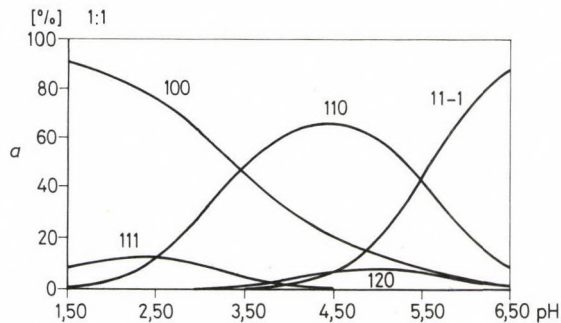
gálata viszont azt mutatta, hogy a modellvegyület fémion-affinitása sokkal kisebb mint a fehérjemolekulában elhelyezkedő azonos csoporté (7. táblázat). A kismolekulájú modell segítségével nyert adatok tehát a makromolekula konformációjának és esetleges polielektrolithatásának befolyását a folyamatra nem tükrözhatték. Így a kismolekula bármily egzakt vizsgálata *magában* nem nyújthatott a biológiai rendszerre jellemző adatokat. A kismolekula ilyen csoportjainak a vizsgálata általános koordinációs kémiai törvényszerűségek megismerésében segít. A fentiekben tárgyalt rendszer például kitűnő példája a mikroállandók meghatározására szolgáló deduktív módszer alkalmazásának, amelyre akkor van szükség, ha az átfedő folyamatokban részt vevő funkciós csoportok spektroszkópiai tulajdonságainak hasonlósága és a csoportok közötti szénatomok kis száma miatt a feladat megoldására a klasszikus kombinált pH-metriás-spektroszkópiás módszer nem használható.

## A SZERKEZETVIZSGÁLATOK SZEREPE A BIOKOORDINÁCIÓS KÉMIÁBAN

E néhány rendszer vizsgálata is jól mutatja, hogy a kis modellvegyületek is nagyon sokféle összetételű és szerkezetű komplexet képezhetnek. Ezért a legalaposabb és a legjobban megtervezett klasszikus egyensúlyi vizsgálat sorozat sem képes magában a rendszer egzakt jellemzésére. Ehhez specifikus szerkezetvizsgáló módszerek bevonása is szükséges. Másrészt viszont a lépcsőzetesen képződő komplexeket tartalmazó oldatok szerkezetvizsgálata kiegészítő egyensúlyi mérések nélkül megoldhatatlan. Az előzőekben tárgyalt cukor-aminosav adduktumok rézkomplexeinek oldatban végzett ESR-vizsgálatánál pl. az összetett ESR-színképek felbontását az egyes komplexekhez rendelhető spektrumrészletekre a rendszer potenciometriás egyensúlyi vizsgálata tette lehetővé (9. ábra). A különböző összetételű és kémhatású rendszerekben ugyanis az egyensúlyi vizsgálatok alapján állapítottuk meg, milyen összetételű részecskék milyen koncentrációban vannak jelen. Az eredményeket a 10. ábra megoszlási görbéi tükrözik. Ennek ismeretében történhetett csak meg a kísérleti ESR-görbék egyértelmű szimulálása. Látható, hogy a biokoordinációs kémiában az egyensúlyi és



**9. ábra.** A réz(II) FRU-GLY rendszer kísérleti és szimulált ESR-spektrumai: *a)* 1 : 1 fém : ligandum arány mellett pH = 3 és pH = 6,1 kémhatású oldatokban, *b)* 1 : 5 fém : ligandum arány mellett pH = 1,8; pH = 3,6; pH = 4,7 és pH = 5,8 kémhatású oldatokban





szerkezeti vizsgálatok kombinációjától várható csak a rendszerek teljes jellemzése.

Mint az eddigiekből is kitűnik, még viszonylag egyszerű modellrendszerekben is, ha a koordinációban különböző donorcsoportok vesznek részt, különböző koordinációs számú és szimmetriájú koordinációs szférák alakulhatnak ki, ún. koordinációs (geometriai) izomerek képződhetnek. Ezek megkülönböztetése, különösen polinukleáris komplexekben, ahol egyazon molekulában több különböző izomer helyezkedhet el, eléggé nehéz. Különösképpen igaz ez azokban a rendszerekben, amelyekből kristályosítási nehézségek miatt egykristályok nem állíthatók elő és így egzakt röntgendiffrakciós vizsgálattal nem jellemezhetők.

Ilyen rendszerek koordinációs centrumainak jellemzésére Mössbauer-aktív fémet tartalmazó modelleket állíthatunk elő és a koordinációs szféra különböző szimmetriájának feltételezésével számított kvadrupólus felhasadást a kísérleti kvadrupólus felhasadással összevetve kapunk információt a fémmegkötő hely szimmetriaviszonyairól [26, 27].

Jól mutatja e módszer alkalmazását és az azzal nyerhető információk gazdagságát 19 különböző szénhidrát dibutil-ón(IV)-komplexének Mössbauer-vizsgálata [28]. E vegyületcsoport tanulmányozása azért is szükséges, mert a szénhidrát szerkezetétől függően változik az ónorganikus származék biológiai hatása.



**8. táblázat.** A csak egyféle ónatomot tartalmazó dibutil-ón(IV)-szénhidrát komplexek kísérleti Mössbauer-paraméterei\* és javasolt szerkezete (*IS* és *QS* mms<sup>-1</sup>-ben) [28]

	Ligandum	<i>IS</i>	<i>QS</i>	Konfiguráció
I	Mannitol	1,06	2,23	T <sub>d</sub> 4
II	Maltóz	1,24	3,06	O <sub>h</sub> 4
III	Raffinóz	1,05	2,21	Tbp4
IV	Laktobionsav	1,31	3,27	O <sub>h</sub> 4
V	D-Galakturonsav	1,43	3,76	Tbp5
VI	D-Glükonsav- $\delta$ -lakton	1,31	3,25	O <sub>h</sub> 4

\* Folyékony nitrogén hőmérsékletén végzett mérésekből számolt paraméterek

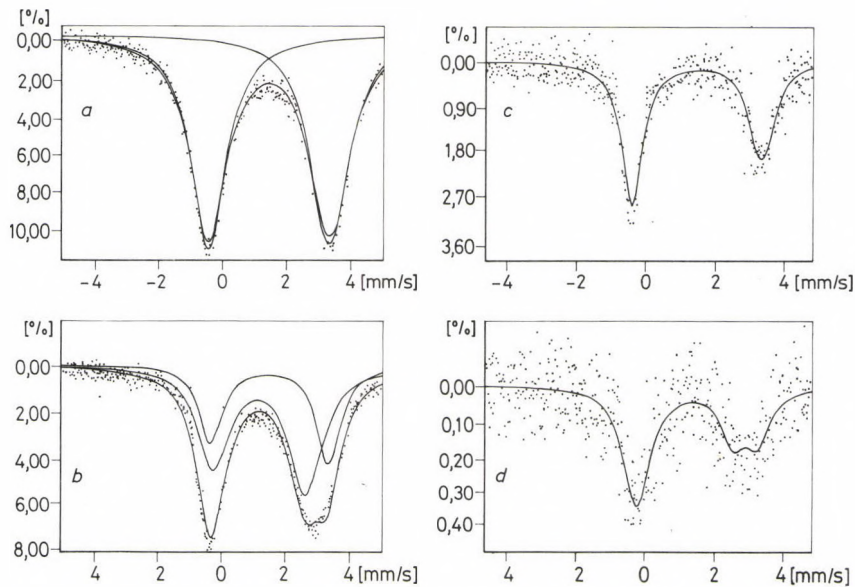
A vizsgálatsorozatból kitűnt [28], hogy e vegyületcsoport tagjai (egy kivétellel) dimerek vagy oligomerek, amelyekben az ón(IV)atomok vagy egyenértékűek és trigonális bipiramis, vagy oktaéder szimmetriájú környezetben foglalnak helyet (8. táblázat), vagy az egyes komplexekben kétfajta ón (trigonális bipiramis és oktaéderes) együtt van jelen (9. táblázat), mint az a 11. ábra Mössbauer-színképeiből kitűnik.

Mind a trigonális bipiramisos, mind az oktaéderes szimmetria többféle izomer formájában lehet jelen (12. ábra). A parciális kvadrupólusfelhasadási számítások során ezek az izomerek is megkülönböztethetők. Ily módon e vizsgálatsorozat azokról a tényezőkről is tájékoztat, amelyek meghatározzák, hogy adott rendszerben a lehetséges izomerek közül me-

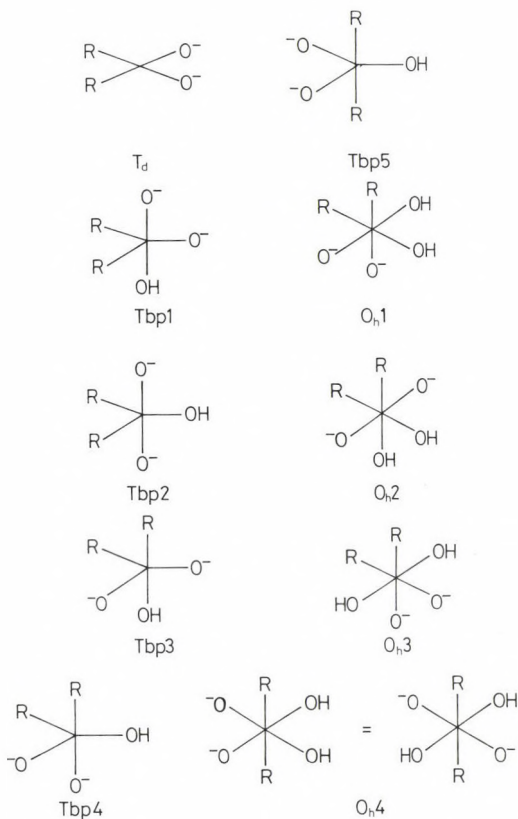
9. táblázat. A keterele onatomot tartalmazó dublett-ón(IV)-szénhidrát komplexek kísérleti Mossbauer-paraméterei ( $IS$ ,  $QS$ ), az ón(IV) javasolt konfigurációja és a dublettek területarányai ( $R_A$ ) a spektrumok felbontása után ( $IS$  és  $QS$   $\text{mms}^{-1}$ -ben) [28]

	Ligandum	$IS_1$	$QS_1$	Konfigu- ráció	$IS_2$	$QS_2$	Konfigu- ráció	$R_A$
VII	D-Glükóz	1,25	2,92	$O_h4$	1,43	3,73	Tbp5	5 : 2
VIII	D-Ribóz	1,22	2,56	Tbp1	1,33	3,78	Tbp5	5 : 2
IX	D-Arabinóz	1,26	2,93	$O_h4$	1,50	3,69	Tbp5	3 : 2
X	L-Arabinóz	1,23	2,65	Tbp1	1,37	3,73	Tbp5	3 : 2
XI	D-Xilóz	1,22	2,58	Tbp1	1,36	3,68	Tbp5	2 : 2
XII	D-Galaktóz	1,33	3,58	Tbp5	1,19	2,40	Tbp1	2 : 2
XIII	D-Mannóz	1,21	2,54	Tbp1	1,35	3,72	Tbp5	3 : 2
XIV	L-Ramnóz	1,25	2,60	Tbp1	1,36	3,75	Tbp5	3 : 2
XV	D-Fruktóz	1,10	2,69	Tbp1	1,47	3,26	$O_h4$	2 : 5
XVI	L-Szorbóz	1,23	2,60	Tbp1	1,34	3,74	Tbp5	4 : 2
XVII	Szorbitol	1,11	2,29	Tbp2	1,30	3,53	Tbp5	5 : 2
XVIII	Maltitol	1,20	2,38	Tbp2	1,30	3,48	Tbp5	3 : 2
XIX	D-Glükonsav- $\delta$ -lakton	1,30	3,14	$O_h4$	1,47	4,16	Tbp5	7 : 2

\* Folyékony nitrogén hőmérsékletén mért spektrumokból számolt paraméterek



11. ábra. A dibutil-ón(IV) D-glakturonsav (*a*, *c*) és D-glükóz (*b*, *d*) származékainak Mössbau-



**12. ábra.** Az ón(IV) koordinációs szférájának szimmetriaviszonyai. A parciális kvadrupólusfelhasadási számításoknál használt izomer szerkezetek.

lyik képződése a kedvezményezett. A Debye—Waller-faktor nagysága mindemellett az oligomerizáció mértékére is több-kevesebb tájékoztatást nyújt.

E vegyületcsoport néhány tagjának elkészült egykristály röntgendiffrakciós vizsgálata igazolta a fenti kezelési mód helyességét. A PQS-konceptió alapján végzett Mössbauer-vizsgálatok az értékelésmód számos közelítése (elhanyagolások) ellenére jól jellemzik a koordinációs szféra szimmetriáját e bonyolult rendszerekben.

## MAKROMOLEKULÁJÚ RENDSZEREK KOORDINÁCIÓS KÉMIAJA

Az élettani folyamatokban szerepet játszó szerves vegyületek nagy része makromolekula, amely sok elektronpádonor csoportot hordoz. Ezekre a soklépcsős átfedő koordinációs kémiai egyensúlyok a jellemzők. Az ilyen rendszerekben az egyensúlyi koordinációs kémia klasszikus módszerei segítségével csak a molekulán elhelyezkedő proton-, illetve fémion-megkötő helyek száma, valamint a fém (proton) és a ligandumot meghatározott arányokban tartalmazó részecskék koncentrációeloszlása ismerhető meg. Az egyensúlyi adatokból nem tűnik ki, hogy adott összetételű oldatokban a molekula kötőhelyei közül melyiken helyezkedik el a proton, illetve a fémion. Így az adott rendszerben egymás mellett képződő azonos bruttó összetételű protonáltsági, illetve komplexképződési izomerek egymástól nem különböztethetők meg. A klasszikus egyensúlyi analízis ezen izomerek koncentrációinak összegét adja csak meg [29].

Ha meggondoljuk, hogy a biológiai hatás specifikus folyamatok eredménye, ez az információ nem sokat ér. Az élettani hatásért a folyamatban részt vevő adott donorcsoport protonáltsági vagy koordinációs állapota lehet felelős, de semmiképpen sem a bruttó pro-



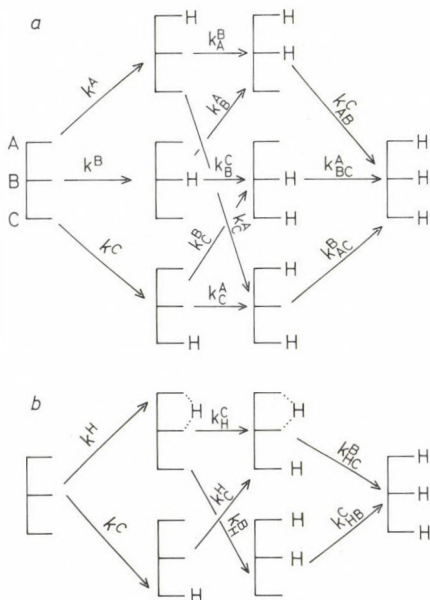
ton : ligandum, vagy fém : ligandum arány. A polifunkciós ligandumok egyes donorcsoporthajnak egzakt jellemzését szolgáló mikroszkopikus egyensúlyi állandók meghatározása — a tudomány mai állása mellett — legfeljebb három, nagyon kivételes esetben négy átfedő egyensúly esetén lehetséges. A biomolekulák nagy részénél ennél jóval több átfedő folyamat játszik szerepet, ami e kezelés alkalmazását lehetetlenné teszi.

Az egyes donorcsoportok specifikus jellemzésére ezért új kezelési módot [30, 31] dolgoztunk ki, amely az olyan rendszerekben használható, ahol a szomszédos donorcsoportok között, egymástól való távolságuk és a konjugáció hiánya miatt, elektroneltolódás nem jön létre, vagy az olyan kicsi, hogy hatása elhanyagolható. Ez az eljárás az egyes csoportokra jellemző, a statisztikus hatásokat és az intramolekuláris hidrogénhidak hatását figyelembe vevő „*csoportállandó*” bevezetéséhez vezetett.

A kétféle kezelési mód által nyújtott információ annyiban különbözik, hogy míg a mikroállandó segítségével egyértelműen követhető az egyes donorcsoportok állapotának (protonáltság, fémionmegkötés) a szomszéd csoportra gyakorolt hatása, addig a csoportállandó a molekulán belül az egyes csoportok közötti elektroneltolódás (I-hatás) okozta változásokat nem veszi figyelembe. Szerencsére a biokémia egyik legfontosabb vegyületcsoportja, a fehérjék és polipeptidek esetében a trifunk-

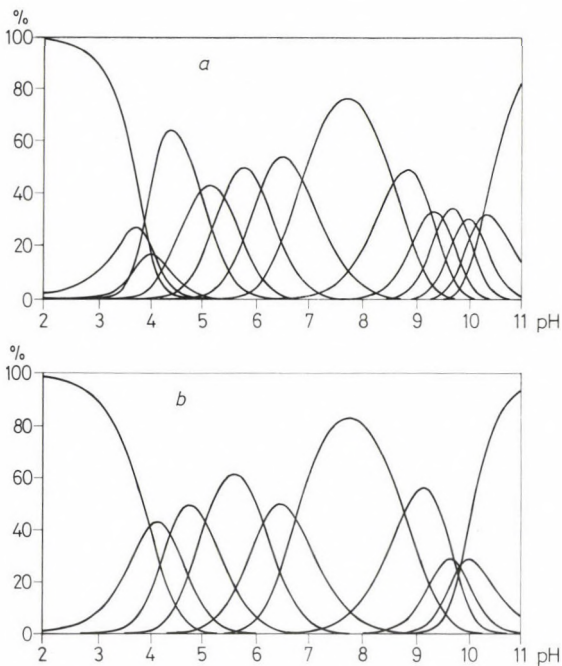


ciós aminosavak által hordozott donoratomok olyan távol esnek egymástól, hogy a peptidláncon keresztül egymásra gyakorolt hatásuk elhanyagolható. Jelentős szerepe van viszont az e molekulák szekunder és terciér (pl. helikális) szerkezete által egymás közelébe hozott (bár a peptidláncban egymástól távol elhelyezkedő) donorcsoportok közötti hidrogénhid- vagy fémhídképződésnek. Ezek a kapcsolatok természetesen megváltoztatják a protonálódási és komplexképződési egyensúlyi állandókat. Két egymáshoz közelítő protonált donorcsoport közötti hidrogénhid kialakulása a kevésbé bázikus donorcsoport deprotonálódását segíti (protonálódási állandóját csökkenti), míg a hidban kötött proton disszociációját akadályozza (a protonálódási állandót növeli). A csoportállandó koncepció az utóbbi kölcsönhatásokat figyelembe veszi. Mi több, az intramolekuláris hidrogénhidak figyelembevétele a számítások alapjául szolgáló modellt egyszerűsíti. Mint a 13. ábrán látható, a három donoratomú rendszerekben hidrogénhid fellépését nem feltételezve nyolc különböző protonáltságú részecske jelenlétével kell számolnunk. Egy hidrogénhid kialakulásával ezek száma hatra csökken. A módszer tehát az átfedő asszociációs egyensúlyok miatt fellépő statisztikus hatás okozta hibák kiküszöbölése mellett lehetővé teszi a sztérikus okok miatt fellépő intramolekuláris kölcsönhatások figyelembevételét.



13. ábra. Trifunkciós ligandum protonálódási sémája H-híd képződését feltételezve (b) és H-híd nélkül (a)

E kezelési mód gyakorlati előnyei: a) a csoportállandók meghatározásához nincsen szükség specifikus analitikai módszerekre, az a klasszikus egyensúlyi kémiai módszerekkel (legegyszerűbben potenciometriásan) elvégezhető; b) alkalmazási körét a donorcsoportok száma lényegében nem korlátozza. Így, bár teljesítőképességük kisebb a mikroállandókénál, a csoportállandók segítségével olyan makromolekulákra is jellemző adatokat kapunk, amelyek a donorcsoportok nagy száma miatt



**14. ábra.** A kortikotropin 1-32 protonálódását leíró megoszlási görbék, *a*) makroszkopikus és *b*) csoportállandókból számolva

mikroállandókkal kezelhetetlenek [29]. Az élettani folyamatokban szerepet játszó molekulák nagy többsége ilyen.

Példaképpen a 14. ábrán bemutatjuk a kortikotropin *N*-terminális 32 aminosavból álló fragmensének makroszkopikus egyensúlyi állandókból számított protonálódási folyamatait leíró megoszlási görbéit. Látható, hogy az adott pH-tartományban 13 donorcsoport protonálódik. A görbék erős átfedése jól mutatja,

**10. táblázat.** A kortikotropin<sub>1-32</sub> protonálódási makro- és csoportállandói (lg *K*) 50 v/v % víz-propilénglikol elegyben [30]

Makroállandó	Csoportállandó	Hozzárendelés
10,27	9,85	Tirozin-OH
10,13	9,84	
9,89	9,83	Lizin-NH <sub>2</sub>
9,50	9,75	
9,28	9,71	
8,58	8,80	
6,90	6,80	
6,11	6,17	Terminális NH <sub>2</sub>
5,41	5,16	Hisztidin-N
4,98	5,06	
4,61	4,45	Aszparaginát-COO <sup>-</sup>
4,07	4,40	
3,95	4,00	Terminális COO <sup>-</sup>

hogy az e módszerrel kapott állandók statisztikai okokból nagy hibával terheltek. Ugyanezen molekula protonálódását a csoportállandó koncepció alapján leírva az átfedések okozta hibák megszűnnek [16]. Jól tükrözi ezt a változást a 10. táblázat két adatsora, amelyből látható, hogy kémiaiag egyenértékű csoportok protonálódási állandói a makroszkopikus kezelésnél különböző értékkel szerepelnek, míg a csoportállandók a helyes értékeket adják meg.

A biológiai hatású makromolekulák jelentős része nagy felületi töltéssűrűséggel rendelkezik és így polielektrolitnak tekinthető. Ez

teszi lehetővé (a hidrofils csoportok mellett) e nagy szerves molekulák vízzoldhatóságát. A nagy felületi töltés elektrosztatikus hatást gyakorol a rendszerben jelenlévő ellenionokra. Ennek következtében az anionos polielektrolit olyan kationokat is megköt, amelyek kismolekulájú fragmenséhez alig vagy nem kapcsolódnak. Így a glikozamino-glikánok, mint a hialuronsav, heparin stb. vizes oldatukban jelentős mennyiségű alkálifémion megkötésére képesek. A sztöchiometrikus összetételű nátrium-hialuronát vizes oldatában a nátriumionoknak alig fele van szabad ion formájában, holott a nátriumion affinitása a karboxilátcsoportokhoz, a hialuronát jellemző fém megkötő helyeihez, igen kicsi [32].

E „polielektrolithatás” következtében e molekulák protonálódása és fémionmegkötése a molekula protonáltsági (illetve komplexképződési) állapotától függ. Tehát e folyamatok még ekvivalens donorcsoportok esetében sem írhatók le koncentrációfüggetlen egyensúlyi állandókkal. E célra az egyensúlyi adatok koncentrációfüggését leíró összefüggésekre van szükség. Ilyen a Henderson—Hasselbach (HH)-egyenlet, amelynek extrapolációjával kaphatjuk meg a polielektrolithoz első lépésben kapcsolódó protonra vagy fémionra jellemző „látszólagos” egyensúlyi állandót.

Mint az előzőekből kitűnik, a makromolekulák fémion-koordinációját az egyes donorcsoportok elektronsűrűsége (bázikussága)



mellett a szomszéd donoratomok állapotától függő elektronszívó vagy elektronküldő hatás, a molekula szekunder szerkezete által okozott kölcsönhatások és a polielektrolithatás együttesen határozzák meg. Ezek szétválasztásához a makromolekulát képező monomer egységek előállítására és a makromolekulával analóg módon történő vizsgálatára van szükség. Teljes képet csak akkor várhatunk, ha nemcsak a monomer viselkedését vetjük össze a teljes makromolekuláéval, hanem a különböző nagyságú fragmensek analóg adatait is meghatározzuk. Ez a legtöbb esetben jelentős preparatív munkát igényel. A kapott eredményeket jól tükrözi például a különböző lánchosszúságú kortikotropin fragmensek protonálódási állandóit és ezüstkomplexeik stabilitási állandóit összevető 11. és 12. táblázat [16, 33]. E rendszer esetében a kis fragmensek nem rendelkeznek szekunder szerkezettel, így adataikat a nagy fragmensekével összevetve jól láthatók a makromolekula strukturális rendeződésének hatására bekövetkező változások.

Ezekre vezethetők vissza pl. az  $\text{ACTH}_{1-32}$  két lizin aminocsoportjának és két karboxilcsoportjának az  $\text{ACTH}_{1-14}$  fragmens megfelelő csoportjaitól szignifikánsan eltérő protonálódási állandó értékei (11. táblázat). A makromolekula szekunder szerkezete ui. olyan csoportokat hoz egymáshoz közeli, hidrogénhíd kialakulásának kedvező helyzetbe, amelyek a kismolekulában egymástól távol helyezkednek

**11. táblázat.** Kortikotropin (ACTH) fragmensek protonálódási csoportállandói (lg értékek) [36]

Funkciós csoport	ACTH <sub>1-4</sub>	ACTH <sub>1-14</sub>	ACTH <sub>1-32</sub>
Terminális COO <sup>-</sup>	3,20	3,47	3,54
Glutamát-COO <sup>-</sup>			3,59(!)
		4,19	4,10
Aszparaginát-COO <sup>-</sup>			4,25
			5,03(!)
Hisztidin-N		6,31	6,43
Terminális NH <sub>2</sub>	7,27	7,29	7,47(!)
Lizin-NH <sub>2</sub>		9,94	9,70(!)
			10,13
			10,45
			10,82
Tirozin-OH	10,70	10,86	10,94
			10,98

el és így ilyen kölcsönhatásban nem vesznek részt. A hidrogénhíd-képződés pedig — mint azt korábban diszkutáltuk — a protonálódási állandók megváltozását okozza.

Az ezüstion-koordinációs vizsgálatok viszont azt bizonyítják [33], hogy az ezüst koordinációja mindegyik fragmens esetén ugyanazon a módon, ugyanazokhoz a donoratomokhoz történik, mégpedig pH-független folyamatban a 4-es helyzetű metionin kéntomjához és pH-függő folyamatban a peptid terminális aminoscsoportjához (12. táblázat). Az így kialakuló meglepően nagy kelátgyűrű az ezüst(I) lineáris koordinációjára vezető sp

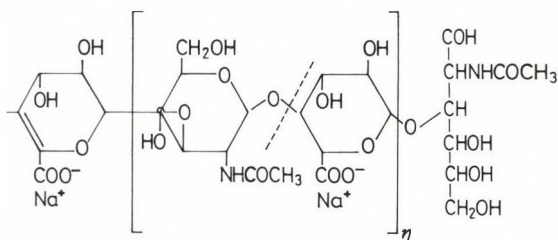


**12. táblázat.** Kortikotropin (ACTH) fragmensek ezüstkomplexeinek stabilitási állandói [33]

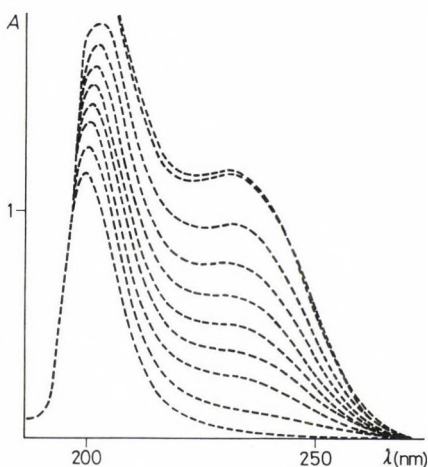
Peptid	lg $K_s$			lg $K_N$ pH = 5
	pH = 1	pH = 2	pH 3	
ACTH <sub>1-4</sub>	3,50	3,64	3,56	5,10
ACTH <sub>1-28</sub>	3,65		3,63	5,50
ACTH <sub>1-32</sub>	3,72		3,58	5,22

hibridizáció eredménye. Ismeretes, hogy a fehérjék másodlagos és harmadlagos szerkezete az oldószertől és az oldatban jelenlévő elektrolitoktól is függ. Vízzel elegyedő szerves oldószerek adagolásával például a helikális struktúra stabilizálódik [34, 35]. A különböző összetételű víz-alkohol elegyekben így követni lehet a globuláris-helikális átalakulásnak a protonálódásra, illetve a fémion-koordinációra gyakorolt hatását [36].

A makromolekula és fragmenseinek összehasonlító vizsgálatához a nagymolekula bontása útján is megteremthetők a feltételek. E célra leginkább az enzimatis bontás látszik alkalmasnak. Az *N*-acetyl-glukózamin és *D*-glukuronát dimer egységekből felépülő makromolekulájú glikozamino-glikán, a hialuronsav, *Streptococcus disgalactiae*ből nyert hialuronidáz enzim segítségével fragmenseire bontható (15. ábra). A vizsgálatok szerint az enzim véletlenszerűen választja ki azokat a helyeket, ahol a molekulát elhasítja, tehát a bontásnak nincs meghatározott iránya. A ke-

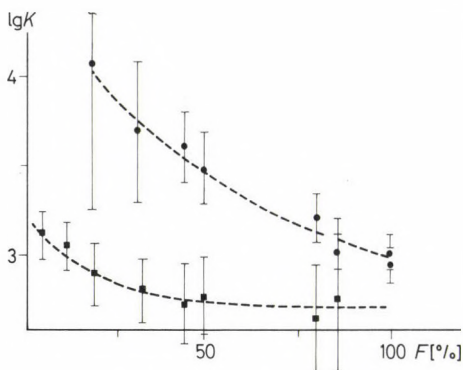


15. ábra. A nátrium-hialuronát enzimatis bontásának sémája



16. ábra. A nátrium-hialuronát enzimatis bontásának UV-spektrofotometriás mérése (a reakcióidő növekedésével az abszorbancia nő)

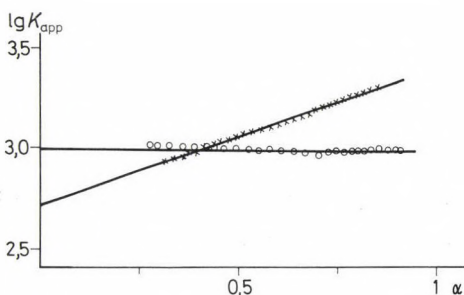
letkező fragmensek egyik végén telítetlen cukormolekula helyezkedik el, amelynek 232 nm-nél abszorpciós maximuma van, ami lehetővé teszi a bomlástermék koncentrációjának és ezzel a makromolekula depolimerizációja mértékének meghatározását (16. ábra). Ily



**17. ábra.** A hialuronát enzimatikusan lebontott frágensei két protonálódási csoportállandójának függése a molekula depolimerizációs fokától

módon az enzimátikus folyamatban keletkező frágensek nagyságának a koordinációs kémiai egyensúlyokra gyakorolt hatása közvetlenül meghatározható [37].

E célra szolgál például a makromolekulán és frágenseken elhelyezkedő karboxilátcsoportok protonálódási csoportállandóinak függése a depolimerizáció mértékétől. A makromolekulán elhelyezkedő karboxilátcsoportok egyenértékűek. A bomlásterméken azonban kétféle bázikusságú karboxilát helyezkedik el, mivel a telítetlen cukoregységhez közeli karboxilát protonálódási állandója nagyobb, mint a glukuronát karboxilátcsoportjáé. Mindkét protonálódási állandó a depolimerizáció előrehaladtával csökken mindaddig, amíg a teljesen lebontott mintánál határértéket nem ér el (17. ábra).



**18. ábra.** A nátrium-hialuronát (x) és annak teljes enzimatisuk bontása útján előállított alapegységének (o) látszólagos protonálódási állandói ( $\lg K_{app}$ ) a molekulák deprotonáltsági foka ( $\alpha$ ) függvényében ábrázolva

Hasonló eredményre vezet az enzimatisuk bontás útján előállított fragmensek a HH-egyenlet extrapolálása útján nyert látszólagos protonálódási állandóinak ( $\lg K_{app}$ ) a molekula protonáltsági állapotának függvényében történő ábrázolása. A 18. ábra a makromolekula és az enzimatisukusan teljesen lebontott egység  $\lg K_{app}$  értékeit ábrázolja, a molekula disszociáció fokának ( $\alpha$ ) függvényében. Látható, hogy míg a makromolekulánál a  $\lg K_{app}$  értékek a molekula negatív töltésének növekedésével nőnek, az enzimatisuk bontás befejezése után kapott diszacharidegységek  $\lg K_{app}$  értéke konstans, és teljesen megegyezik a glukuronát-egységhez tartozó karboxilát protonálódási csoportállandójával. A vizsgálatokból tehát nemcsak a makromolekuláris hatás volt kimutatható, hanem az is kitűnt, hogy e kérdés kezelésére a HH-függvény és a csoportállandó koncepció egyaránt alkalmas.

## KÖVETKEZTETÉSEK

E rövid áttekintésből is kitűnik, hogy a biológiai hatású rendszerekben lejátszódó koordinációs kémiai folyamatok megismeréséhez az egyensúlyi és szerkezeti szerves kémia fegyvertárának és a makromolekuláris kémia egyes módszereinek együttes alkalmazására van szükség. Az ilyen rendszerek és a bennük lezajló folyamatok bonyolultsága miatt nagyon sok esetben leegyszerűsített modellek vizsgálata alapján leszűrt következtetésekből kell az eredeti molekulák tulajdonságaira következtetnünk. Különösen nagy gondot kell fordítani az átfedő koordinációs kémiai egyensúlyok okozta összetett hatások szétválasztására vagy figyelembevételére és a különböző donoratomokból felépülő koordinációs szférák szimetriaviszonyainak, a koordinációs (geometria) izomereknek az azonosítására.

A biokoordinációs kémia — feladatainak bonyolult és egzakt módon nehezen megoldható volta ellenére — az elmúlt években világszerte jelentős eredményeket ért el. Jelen összeállítás tükrözi a mi hozzájárulásunkat az elmúlt 5—10 év ilyen eredményeihez.



## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Engedjék meg, hogy befejezésül néhány szóval köszönetet mondjak azoknak, akiknek segítségével a mai, számomra fontos naphoz eljutottam.

Mindenekelőtt szeretettel és hálával emlékezem szüleimre, akik a természettudományos gondolkodásba bevezettek, az ő gyógyszerári laboratóriumukban végeztem el első kémiai kísérleteimet, értem el az első sikereket és szenvedtem el az első kudarcot.

Hálás köszönettel tartozom mesteremnek, Schulek Elemér akadémikusnak, akinek a napokban ünnepeltük 100. születésnapját. Az ő példájának köszönhetem, hogy a kémiai kutatás nemcsak hivatásommá, életformámmá vált.

Nagy öröm, hogy Szabó Zoltán akadémikus, aki 17 éven keresztül volt tanszékvezetőm, itt ül a hallgatóság soraiban. Köszönöm neki, hogy munkámat mindig érdeklődéssel kísérte és támogatta.

Kutatómunkám során sok munkatárssal és tanítvánnyal dolgoztam együtt. Az ő áldozatos munkájuk, érdemi hozzájárulásuk nélkül nem születtek volna meg a mai elismeréshez vezető dolgozatok és könyvek. Nevüket is bemutatja jelen dolgozatom irodalomjegyzéke. Ezúton is köszönöm segítségüket.



Külön köszönöm a Koordinációs Kémiai Munkabizottság tagjainak, hogy a munka során folyamatosan bemutatott eredményeink építő kritikájával segítették munkámat.

Végezetül köszönöm Önöknek a figyelmet.

# IRODALOM

1. BURGER, K. (ed.): *Biocoordination Chemistry: Coordination Equilibria in Biologically Active Systems*, Ellis Horwood, New York, London, 1990.
2. KENDRIK, M. J., MAY, M. T., PLISHKA, M. J. ROBINSON, K. D.: *Metals in Biological Systems*, Ellis Horwood, New York, London, 1992.
3. VALLEE, B. L., WILLIAMS, R. J. P.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **59**, 498 (1968)
4. KALBITZER, H. R.: *Metal Ions in Biological Systems* **22**, 81 (1987)
5. MILDVAN, A. S.: *Magnesium* **6**, 28 (1987)
6. RAYMUND, K. N., GARRETT, T. M.: *Pure Appl. Chem.* **60**, 1087 (1988)
7. TUROWSKI, D. N. RODGERS S. J., SCARROW, R. C., RAYMOND, K. N.: *Inorg. Chem.* **27**, 474 (1988)
8. WALSHA J. M.: *Brit. J. Hospital Med.* **91**, 248 (1970)
9. BURGER, K., VÉBER, M., SIPOS, P., GALBÁCS, Z., HORVÁTH, I., SZEPESI, G., TAKÁCSI-NAGY, G., SIEMROTH, J.: *Inorg. Chim. Acta* **124**, 175 (1986)
10. MARTIN, R. B.: *Metal Ions in Biological Systems* **19**, 19 (1985)
11. FIALLO, M. M. L., GARNIERS, A.: *Inorg. Chim. Acta* **137**, 119 (1987)
12. WASI, N., SINGH, H. B., GAJAMANA, A., RAICHOWDHARY, A. N.: *Inorg. Chim. Acta* **135**, 133 (1987)
13. WASI, N., SINGH, H. B.: *Inorg. Chim. Acta* **151**, 187 (1988)
14. HAC, E., GAGALO, I.: *Pol. J. Pharm.* **39**, 219 (1987)
15. BARRY, R. H., RUBIN, H., JOHNSON, J. B., LAZARUS, J. H.: *J. Pharm. Sci.* **70**, 204 (1981)
16. BURGER, K.: *Bioelectrochemistry and Bioenergetics* **20**, 33 (1988)
17. BURGER, K. (ed.): *Biocoordination Chemistry: Coordination Equilibria in Biologically Active Systems*, Ellis Horwood, New York, London, 1990 III. fejezet (szerző: Kiss, T.) és az abban citált dolgozatok

18. BURGER, K. (ed.): Biocoordination Chemistry: Coordination Equilibria in Biologically Active Systems, Ellis Horwood, New York, London, 1990 VI. fejezet (szerzők: BURGER, K., NAGY, L.) és az abban citált dolgozatok
19. GAJDA, T., NAGY, L. BURGER, K.: *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1990**, 3155
20. GAJDA, T., NAGY L., ROZLOSNIK, N., KORECZ, L., BURGER, K.: *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1992**, 475
21. BURGER, K.: The Role of Solvents in Coordination Chemical Phenomena in „Perspectives in Coordination Chemistry” (ed. A. F. WILLIAMS, C. FLORIANI, A. E. MERBACH). VHC, Weinheim, New York, 1992, p. 345—380.
22. GYURCSIK, B., GAJDA, T., NAGY, L., BURGER, K.: *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1992**, 2787
23. GYURCSIK, B., GAJDA, T., NAGY L., BURGER, K., ROCKENBAUER, A., KORECZ, L. JR.: *Inorg. Chim. Acta* **214**, 57 (1993)
24. NAGY, L., YAMASHITA, S., NOMURA, M., YAMGAGUCHI, T., WAKITA, H.: *Photon Factory Activity Report* **7**, 41 (1989) és **8**, 193 (1990)
25. BURGER, K., SIPOS, P., VÉBER, M., HORVÁTH, I., NOSZÁL, B., LÖW, M.: *Inorg. Chim. Acta* **152**, 233 (1988) és a benne citált dolgozatok
26. JURKSCHAT, K. TZSCHACH, A., WEICHMANN, I., RAJCZY, P., MOSTAFA, M. A., KORECZ, L., BURGER, K.: *Inorg. Chim. Acta* **179**, 83 (1991)
27. NAGY, L., KORECZ, L., KIRICSI, I., ZSIKLA, L., BURGER, K.: *Struct. Chem.* **2**, 231 (1991)
28. BURGER, K., NAGY, L., BUZÁS, N., VÉRTES, A., MEHNER, H.: *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 1993, 2499
29. BURGER, K. (ed.): Biocoordination Chemistry: Coordination Equilibria in Biologically Active Systems, Ellis Horwood, New York, London, 1990 II. fejezet (szerző: NOSZÁL, B.) és az abban citált dolgozatok
30. NOSZÁL, B., BURGER, K.: *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* **100**, 275 (1979)
31. NOSZÁL, B.: *J. Phys. Chem.* **90**, 6345 (1986)
32. SIPOS, P., VÉBER, M., BURGER, K., ILLÉS, J., MACHULA, G.: *Acta Chim. Hung.* **129**, 671 (1992)
33. NOSZÁL, B., BURGER, K.: *Inorg. Chim. Acta* **35**, L387 (1979)
34. SATOH, M., FUJII, Y. KATO, F., KOMIJAMA, J.: *Biopolymers* **31**, 1 (1991)

35. SATOH, M., MATSUMATO, N., KOMIJAMA, J., IIJAMA, Y.: *Polymer Common.* **28**, 71 (1987)
36. NOSZÁL, B., BURGER, K.: *Inorg. Chim. Acta* **46**, 229 (1980)
37. BURGER, K., SIPOS, P.: *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **65**, 2211 (1992)



A kiadásért felelős  
az Akadémiai Kiadó és Nyomda igazgatója  
A nyomdai munkálatokat  
az Akadémiai Kiadó és Nyomda végezte  
Felelős vezető: Zöld Ferenc  
Budapest, 1995  
Nyomdai táskaszám: 24323  
Felelős szerkesztő: Balassa Éva  
Műszaki szerkesztő: Kiss Zsuzsa  
Kiadványszám: 1-95-60  
Megjelent 3,2 (A/5) ív terjedelemben  
HU ISSN 0236-6258







Ára: 224,— Ft 12% áfával